

primatas, roedores e marsupiais. Para entender a diversificação dos mamíferos, será utilizada uma abordagem que combina estudos de sistemática, biogeografia, genética quantitativa e morfometria. São objetivos específicos deste projeto: 1) estudar a evolução e a integração morfológica em diversos *taxa* de mamíferos neotropicais, em particular primatas, roedores e marsupiais; 2) comparar entre os *taxa* as matrizes de variância/covariância e de correlação fenotípicas P (na maioria dos casos) e genéticas G (para alguns poucos *taxa* com coleções de esqueleto de genealogia conhecidas); 3) estudar padrões de variação geográfica e diferenciação intra e interespecíficas nestes grupos; 4) explorar as consequências taxonômicas dos estudos acima; 5) utilizar o arcabouço da genética quantitativa para interpretar os resultados dos objetivos prévios, em particular entender as forças evolutivas responsáveis pela diversificação morfológica e taxonômica; 6) utilizar os resultados dos objetivos acima para discutir a biogeografia e a sistemática dos mamíferos sul-americanos. O estudo da integração morfológica, embora sendo um tema central e sempre presente na biologia, mesmo antes da revolução desencadeada por Darwin, ganhou muita força a partir da publicação do livro *Morphological integration*, por Olson e Miller em 1958. Mais do que meramente chamar a atenção para um problema já conhecido, estes autores tiveram um papel seminal ao mostrar como é possível medir a integração morfológica e compará-la entre populações e espécies. Ao se comparar esses padrões de integração morfológica, é fundamental, na medida do possível, testar se os padrões observados concordam ou não com padrões esperados, seja via biologia do desenvolvimento ou via genética quantitativa, de correlação entre os caracteres ou de variação entre populações. Por outro lado, a diversificação na América do Sul, até recentemente, tem sido um campo dominado pelo emprego de hipóteses *ad hoc* para explicar os padrões observados de variação geográfica e diferenciação. Este tipo de abordagem vem sendo substituído, principalmente na última década, por uma preocupação cada vez maior em não apenas descrever os padrões de diferenciação entre populações e espécies, mas também testar se estes são compatíveis com padrões esperados de variação pelos diversos modelos existentes para explicar a diversificação nos neotrópicos. Para atingir os objetivos acima, dados de medidas cranianas e, correspondentemente para cada localidade de ocorrência dos mesmos, de distribuição geográfica (latitude e longitude), clima e vegetação serão levantados. Estes dados serão utilizados para estudar a variação geográfica e diferenciação intra e interespecífica em diversos táxons de mamíferos. Os resultados dessas análises serão comparados com padrões esperados pelos modelos de diversificação existentes. Ao mesmo tempo, o arcabouço teórico da genética quantitativa será empregado para se entender os processos evolutivos levando a essa diversificação fenotípica.

242

### **Análise comparativa e funcional dos genomas de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* e *Leifsonia xyli* subsp. *cynodontis***

Cláudia Barros Monteiro Vitorello

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq)

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2001/12613-0

Vigência: 1/6/2002 a 31/7/2004

Projetos de sequenciamento de genomas possuem a característica de gerar um grande volume de conhecimento que precisa ser estudado *a posteriori* por meio de análises funcionais. Assim, o presente projeto representa um primeiro esforço no sentido de explorar funcionalmente os resultados do projeto de sequenciamento do genoma da bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, no que tange à identificação de genes de patogenicidade. Seus objetivos dividem-se em duas vertentes: análise comparativa e análise funcional propriamente dita. No caso de Lxx, a análise comparativa reveste-se de especial interesse e de grande potencial para identificar genes de patogenicidade, haja vista a existência de uma outra subespécie de *Leifsonia xyli*, denominada Lx. subsp. *cynodontis* (Lxc), que é patogênica a gramíneas do gênero *Cynodon*, mas que, embora endofítica, não é patogênica à cana-de-açúcar. Considerando o grande número de exemplos em que fenótipos virulentos podem ser determinados pela presença ou ausência de certos genes, o presente projeto utilizará técnicas alternativas ao sequenciamento completo de genomas para identificar genes exclusivos ao genoma de cada uma destas bactérias. Por meio da hibridização do genoma de Lxc a um *microarray* de DNA baseado no genoma completamente sequenciado de Lxx, teremos informações referentes às sequências que estão ausentes no genoma de Lxc. Para obter informações sobre genes adicionais presentes em Lxc, mas ausentes em Lxx, serão utilizados métodos de hibridização subtrativa do DNA total dos dois genomas. A expressão desses genes será então analisada em experimentos funcionais subsequentes. Os experimentos funcionais utilizarão a técnica de *microarray* para estudar padrões de expressão gênica de isolados selvagens patogênicos de Lxx e de mutantes não patogênicos, por meio de hibridizações de DNA total com o cDNA preparado a partir de mRNA extraído de células de Lxx cultivadas em meio de cultura na presença e ausência de extratos vegetais. Genes de expressão alterada em Lxx também serão estudados em Lxc, se presentes nessa subespécie, por meio de *microarray*.

243

### **Clonagem e expressão de genes de resistência a antracnose baseados nos mapas de ligação de milho e feijoeiro**

Maéli Melotto

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq)

Universidade de São Paulo (USP)  
 Processo 2000/09049-2  
 Vigência: 1/2/2001 a 28/2/2003

O estudo visa à descoberta de novos genes que condicionem resistência à antracnose em milho e feijoeiro por meio do uso de *genomics* funcional e expressão do gene COK-4 previamente clonado em feijoeiro. Os objetivos específicos deste projeto são os seguintes: 1) estudar a expressão do gene COK-4 localizado no *locus* de resistência à antracnose do feijoeiro por meio do uso de técnicas moleculares e localizar outros genes de importância para a função do *locus* Co-4; 2) mapear o gene de resistência à antracnose Co-42 com uso de clones homólogos de Artificial Bacterial Chromosome (BAC) em feijoeiro e saturar esse *locus* com marcadores moleculares de alto polimorfismo, tais como AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) e SNP (Single Nucleotide Polymorphism); 3) isolar genes de resistência à antracnose em milho, utilizando mapas de ligação em milho juntamente com análise de sequências homólogas baseadas no gene Co-4 em feijoeiro e EST (Expressed Sequence Tag) de clones disponíveis em bases de dados; e 4) usar homólogos associados por meio da técnica de *chromosome walk* para subclonar genes funcionais de resistência à antracnose em milho. O trabalho proposto encontra-se estruturado na descoberta recente de que genes de resistência à doença possuem estrutura molecular e função similares mesmo em diferentes espécies.

#### 244 Mapeamento genômico do cromossomo Y bovino

Mônica Regina Vendrame Amarante  
 Universidade Estadual Paulista (Unesp)  
 Campus de Dracena  
 Processo 2000/03917-2  
 Vigência: 1/8/2000 a 31/3/2004

O mapeamento genômico comparativo ajuda a elucidar a estrutura do genoma, bem como a evolução cromossômica. Sabendo-se que o genoma de mamíferos é bastante conservado e que há mapas genômicos detalhados para a espécie humana, o estudo do genoma humano permite a extrapolação indireta da informação para muitas espécies, incluindo bovinos. A análise genética de células somáticas é um método largamente empregado na construção de mapas sintênicos. A análise do painel SC permite determinar se um ou mais marcadores estão presentes em um cromossomo bovino específico, porém não é possível determinar a localização precisa dos marcadores em regiões cromossômicas, nem sua ordenação. Isso só é possível com o emprego do painel de células somáticas híbridas irradiadas (Whole Genome-Radiation Hybrid Panel=WG-RH). O método WG-RH é baseado

na análise das quebras cromossômicas ocorridas após os fibroplastos serem submetidos a raios X. Estimando-se a frequência de quebras, e conseqüentemente a distância entre marcadores, é possível determinar sua ordem no cromossomo. Este projeto tem por objetivo o desenvolvimento do mapeamento genético comparativo de bovinos por meio da construção do mapa do cromossomo Y bovino com microssatélites e genes. Para tanto, serão empregados os painéis SC e WG-RH, previamente descritos.

#### 245 Aspectos moleculares de *Magnaporthe grisea* do trigo

Alfredo Seiiti Urashima  
 Centro de Ciências Agrárias  
 Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)  
 Processo 1999/12269-5  
 Vigência: 1/12/2000 a 31/3/2005

A brusone (*Magnaporthe grisea*) do trigo é uma doença recente e somente encontrada no Brasil. O potencial de dano para a triticultura nacional é de 10% a 11% na produtividade. Não existe nenhuma variedade resistente ou fungicida eficiente para o seu controle. Além disso, o agente causal é diferente da brusone do arroz. Por todas essas características, fica evidenciado que cabe aos pesquisadores do Brasil obter as informações necessárias para o manejo dessa doença. Esse patógeno é o foco deste projeto, que enfoca diversos aspectos moleculares e está subdividido em três partes, a saber: 1) reprodução sexual de *M. grisea* do trigo analisada por meio de técnicas moleculares. Neste estudo, DNA *fingerprints* combinados ao perfil RFLP com sondas de cópia única serão produzidos com isolados de um mesmo campo, a fim de se analisar se a reprodução sexual ocorre nesse patógeno; 2) estudo filogenético de *M. grisea* do trigo. A fim de se estudar a origem dessa doença, RFLP de DNA microcondrial e sonda de cópia simples de *M. grisea* do trigo e de várias gramíneas serão analisadas quanto ao relacionamento entre eles; 3) mapa genético de *M. grisea* do trigo: identificação e mapeamento de marcadores Rapd e Scar ligados a gene de avirulência e *mating type*. Este será o primeiro mapa genético em *M. grisea* do trigo com o objetivo posterior de clonar genes de interesse.

#### 246 Identificação e análise molecular de genes patogênicos envolvidos na interação citros-*Xylella fastidiosa*

Cláudia de Mattos Bellato  
 Centro de Energia Nuclear na Agricultura (Cena)  
 Universidade de São Paulo (USP)  
 Processo 1999/00395-6  
 Vigência: 1/8/1999 a 31/8/2004